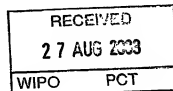


**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



PCT/EP03/8230

## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 102 38 048.1

**Anmeldetag:** 20. August 2002

**Anmelder/Inhaber:** Wilex AG, München/DE

**Bezeichnung:** Verfahren zur Herstellung von  
Phenylalanin-Derivaten

**Priorität:** 25.07.2002 DE 102 33 919.8

**IPC:** C 07 C, C 07 B, C 07 F

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 14. Mai 2003  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
Im Auftrag

*Wegner*

Wegner

# WEICKMANN & WEICKMANN

Patentanwälte  
European Patent Attorneys · European Trademark Attorneys

Dipl.-Ing. H. WEICKMANN (bis 31.1.01)  
Dipl.-Ing. F. A. WEICKMANN  
Dipl.-Chem. B. HUBER  
Dipl.-Ing. H. LISKA  
Dipl.-Phys. Dr. J. FRECHTEL  
Dipl.-Chem. Dr. B. BOHM  
Dipl.-Chem. Dr. W. WEISS  
Dipl.-Phys. Dr. J. TIESMEYER  
Dipl.-Phys. Dr. M. HEKZOG  
Dipl.-Phys. B. RUTTENSPERGER  
Dipl.-Phys. Dr.-Ing. V. JORDAN  
Dipl.-Chem. Dr. M. DEY  
Dipl.-Forstw. Dr. J. LACHNIT

Unser Zeichen:  
28578P DE-1/WWMDpush

Anmelder:  
Wilex AG  
Grillparzerstraße 10  
81675 München

---

Verfahren zur Herstellung von Phenylalanin-Derivaten

---

## Verfahren zur Herstellung von Phenylalanin-Derivaten

### Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten, insbesondere von Triisopropylphenyl-sulfonyl-substituierten 3-Amidino- oder 3-Guanidino-phenylalanin-Derivaten.

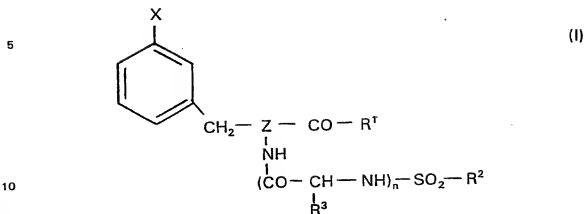
10

Die Herstellung von 3-Amidinophenylalanin-Derivaten, insbesondere von  $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-amidino-(L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid (WX-UK1) und deren Verwendung als Urokinase-Inhibitoren ist beispielsweise in CH-A-6 89 611, WO 00/04954 und WO 00/17158 sowie in der Publikation Stürzebecher et al. (Bioorg. Med. Chem. Let. 9 (1999), 3147-3152) beschrieben. DE 102 25 876.7 beschreibt die Herstellung von Guanidinophenylalanin-Derivaten als Urokinaseinhibitoren. Die dort verwendeten Syntheseverfahren sind im Labormaßstab ohne Weiteres nachvollziehbar, für industrielle Anwendungen jedoch zu aufwändig und zu teuer. Insbesondere die Synthese der Vorstufe 2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl (TIPPS)-(L)-3-cyanophenylalanin durch Reaktion von (L)-3-Cyanophenyl-alanin und TIPPS-Cl ist problematisch. Diese Reaktion liefert im Allgemeinen relativ geringe Produktausbeuten von maximal 45 %, da 53 % hydrolysiertes TIPPS-OH als unerwünschtes Nebenprodukt anfallen. Zusätzlich kann das erwünschte Reaktionsprodukt nur über aufwändige Chromatografieverfahren vom Nebenprodukt getrennt werden. Ein weiteres Problem besteht darin, dass kein kostengünstiges Verfahren zur Herstellung des als Ausgangsmaterial verwendeten 3-Cyanophenylalanins bekannt war.

30

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung bestand darin, die Nachteile des aus dem Stand der Technik bekannten Syntheseverfahrens mindestens teilweise zu überwinden.

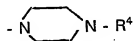
- 5 Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung von 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten, umfassend eine oder mehrere der folgenden Maßnahmen:
- (a) Verwendung von 3-Cyanobenzylbromid als Ausgangsmaterial, das mit einem N-geschützten Aminomalonsäurediester zu einem N-geschützten Cyanophenylalanin umgesetzt wird;
  - 10 (b) Aufarbeitung des Produkts aus der Reaktion von 3-Cyanophenylalanin und einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere 2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl (TIPPS)-halogenid, in einem wässrigen Medium;
  - 15 (c) Umsetzung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanins mit einem Piperazinderivat unter Bildung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanin-piperazids und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere einem TIPPS-halogenid;
  - 20 (d) Umsetzung von 3-Cyanophenylalanin mit einer quaternären Ammoniumhydroxidverbindung zu einem 3-Cyanophenylalanin-ammoniumsalz und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere einem TIPPS-halogenid;
  - 25 (e) Umsetzung von 3-Cyanophenylalanin mit einer Trialkylsilanverbindung zu einem 3-Cyanophenylalanintrialkylsilylester und, dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid.
- 30 Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung von 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin abgeleitete neue Urokinase-Inhibitoren der allgemeinen Formel I,



die als Racemate sowie als L- bzw. D-konfigurierte Verbindungen vorliegen und in denen

15 X eine Amidino- oder Guanidinogruppe ist,

R<sup>1</sup> eine Gruppe der Formel



20

darstellt, in welcher R<sup>4</sup>

- (i) einen gegebenenfalls z.B. mit C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkylrest, wie z.B. Ethoxycarbonyl, oder Arylrest, wie z.B. Phenyl, p-Halogenphenyl, Naphthyl,
- (ii) einen gesättigten oder ungesättigten, verzweigten oder unverzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxyrest oder
- (iii) einen gegebenenfalls z.B. mit C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Phenoxy- bzw. Benzyloxycarbonylrest bedeutet,
- 25
- 30

5  $R^2$  einen gegebenenfalls z.B. mit  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl,  $C_1$ - $C_3$ -Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Phenylrest, wie beispielsweise Phenyl, 4-Methyl-phenyl, 2,4,6-Trimethyl-phenyl, 2,4,6-Triisopropyl-phenyl, 4-Methoxy-2,3,6-trimethyl-phenyl darstellt,

$R^3$  H oder verzweigtes bzw. unverzweigtes  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl ist und n 0 oder 1 bedeutet,

10 Z N oder  $CR^9$  bedeutet, wobei  $R^9$  H oder verzweigtes oder unverzweigtes  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl ist, sowie deren Herstellung.

15 Die Verbindungen können auch als Salze, vorzugsweise als physiologisch verträgliche Säuresalze, z.B. als Salze von Mineralsäuren, besonders bevorzugt als Hydrochloride, oder als Salze von geeigneten organischen Säuren vorliegen.

20 Von den in den allgemeinen Ansprüchen definierten Verbindungen sind solche, bei denen  $R^2$  einen einfach, zweifach oder dreifach alkylsubstituierten Phenylrest, insbesondere einen 2,4,6-substituierten Phenylrest, z.B. einen 2,4,6-Triisopropylphenyl-Rest darstellt, und n = 0 ist, von besonderer Bedeutung. Weiterhin bevorzugt sind Verbindungen, bei denen Z CH ist.

25 Besonders bevorzugt handelt es sich bei der Verbindung der Formel (I) um  $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid,  $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-guanidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid, um die L-Enantiomeren davon oder um pharmazeutisch verträgliche Salze dieser Verbindungen.  
30

In Maßnahme (a) wird vorzugsweise ein N-Acyl-geschützter Aminomalon-säurediester, insbesondere ein N-Acetyl-geschützter Amino-malonsäurediester, wie etwa Acetamido-malonsäurediethylester, verwendet. Die Ausgangsmaterialien 3-Cyanobenzylbromid sowie der N-geschützte Aminomalon-säurediester sind kommerziell erhältlich und können in hoher Ausbeute zu einem N-geschützten 3-Cyanophenylalanin umgesetzt werden.

Gemäß Maßnahme (b) erfolgt die Aufarbeitung des Reaktionsprodukts von 3-Cyanophenylalanin, insbesondere von (L)-3-Cyanophenylalanin, und einem gegebenenfalls substituierten, z.B. einem sterisch gehinderten Phenylsulfonyl-halogenid, insbesondere TIPPS-Cl, in einem wässrigen Medium, vorzugsweise in Wasser. Das erwünschte Produkt wird in 95 %iger oder noch höherer Reinheit ohne chromatografische Trennung erhalten. Überraschenderweise gelingt auf einfache Weise eine im wesentlichen qualitative Abtrennung des unerwünschten Phenylsulfonyl-hydroxids, insbesondere TIPPS-OH.

Gemäß Maßnahme (c) wird 3-Cyanophenylalanin, insbesondere das (L)-3-Cyanophenylalanin, zu einem N-geschützten Derivat, z.B. einem tBOC geschützten Derivat, umgesetzt. Anschließend erfolgt die Reaktion mit einem Piperazin-Derivat, z.B. Ethoxycarbonylpiperazid, unter Bildung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanin-piperazids. Dieses Produkt wird nach Abspaltung der Schutzgruppe anschließend mit einem gegebenenfalls substituierten, z.B. einem sterisch gehinderten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere TIPPS-Cl, umgesetzt. Diese Reaktion verläuft nicht über die Bildung des Nebenprodukts TIPPS-OH und bedarf daher keiner zusätzlichen Reinigungsschritte des gewünschten Produkts.

Gemäß Maßnahme (d) wird 3-Cyanophenylalanin, insbesondere (L)-3-Cyanophenylalanin mit einer quaternären Ammoniumhydroxidverbindung, wie etwa Benzyltrimethylammoniumhydroxid (Triton B), zu einem 3-Cyanophenylalanin-ammoniumsalz umgesetzt. Dieses Produkt wird anschließend

mit einem gegebenenfalls substituierten, z.B. einem sterisch gehinderten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere TIPPS-Cl, ohne nennenswerte Bildung des Nebenprodukts TIPPS-OH zum gewünschten Produkt TIPPS-3-Cyanophenylalanin reagiert.

5

10 Gemäß Maßnahme (e) wird 3-Cyanophenylalanin, insbesondere (L)-3-Cyanophenylalanin zunächst mit einer Trialkylsilanverbindung umgesetzt. Als Trialkylsilanverbindung werden bevorzugt Verbindungen eingesetzt, in denen die Alkylreste gleich oder verschieden sind und jeweils 1 bis 20, bevorzugt 1 bis 4 Kohlenstoffatome aufweisen. Besonders bevorzugt wird Trimethylsilan verwendet. Die Umsetzung erfolgt vorteilhafterweise in einem wasserfreien Lösungsmittel, beispielsweise in Dichlormethan. Die freie Aminosäure 3-Cyanophenylalanin wird bevorzugt mit einem Überschuss an Trialkylsilanverbindung, beispielsweise 2 bis 4, insbesondere 2,5  
15 bis 3 Äquivalenten davon im Lösungsmittel, beispielsweise in Dichlormethan, suspendiert. Dabei bildet sich intermediär der wasserempfindliche Trialkylsilylester, beispielsweise der Trimethylsilylester, als Schutz vor Dimerisierung und durch die gleichzeitige Silylierung der Aminogruppe wird die Nucleophilie erhöht, wodurch die anschließende Reaktion mit einem  
20 gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid beschleunigt wird. Der als Zwischenprodukt gebildete 3-Cyanophenylalanintrialkylsilylester wird dann mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere mit Triisopropylphenylsulfonylchlorid (TIPPS-Cl) zum gewünschten Produkt TIPPS-3-Cyanophenylalanin umgesetzt. Bei dieser  
25 Umsetzung wird vorteilhafterweise eine Base, beispielsweise Diisopropylethylamin (DIPEA) zugesetzt. Bei dieser Reaktion kann das gewünschte Produkt in hoher Ausbeute und in hoher Reinheit erhalten werden.

Weiterhin soll die Erfindung durch die nachfolgenden Abbildungen und  
30 Beispiele erläutert werden:



**Abbildung 1** zeigt eine erste Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, umfassend die Verwendung von Maßnahme (a), d.h. Verwendung von 3-Cyanobenzylbromid und Acetamidomalonsäurediethyl-ester als Ausgangsmaterialien. Der Reaktionsansatz bei der Umsetzung von (L)-3-Cyanophenylalanin und TIPPS-Cl kann in wässrigem Medium (Maßnahme (b)) aufgearbeitet werden.

**Abbildung 2** zeigt eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß Maßnahme (c). Eine Lösung von (L)-3-Cyanophenylalanin wird unter Schotten-Baumann-Bedingungen mit Pyrokohlensäure-di-*tert*-butylester ( $\text{BOC}_2\text{O}$ ) umgesetzt, um die entsprechende BOC-geschützte Aminosäure ( $\text{BOC-L-Phe(3-CN)-OH}$ ) zu erhalten. Diese wird mit N-Ethoxycarbonylpiperazin und einem geeigneten Kupplungsreagens (etwa DCC, HBTU, PyBOP oder anderen in der Peptidchemie üblicherweise eingesetzten Reagenzien) zum korrespondierenden Amid  $\text{BOC-L-Phe(3-CN)-Pip-COOEt}$  umgesetzt. Durch Lösen der Verbindung in starken Säuren (z.B. Trifluoressigsäure, HCl-Gas in Dioxan oder Methanol) wird die BOC-Schutzgruppe vom Molekül abgespalten. Die dadurch entstandene freie Aminogruppe lässt sich unter Zusatz von organischen Basen (z.B. Triethylamin oder Diisopropylethylamin) in einem wasserfreien Lösungsmittel mit Triisopropylphenylsulfonylchlorid (TIPPS-Cl) zum entsprechenden Sulfonamid  $\text{TIPPS-L-Phe(3-CN)-Pip-COOEt}$  umsetzen. Der Vorteil dieser Reaktionssequenz ist, dass die Umsetzung mit TIPPS-Cl unter wasserfreien Bedingungen durchgeführt werden kann, wodurch keine Hydrolyse des Sulfonylchlorids zur Sulfonsäure auftritt. Durch vorangegangene Reaktion der freien Carbonsäurefunktion von  $\text{BOC-L-Phe(3-CN)-OH}$  mit dem Piperazin treten auch keine Nebenreaktionen, wie Polymerisierung der Aminosäure durch Aktivierung der Carbonsäure mittels des Sulfonylchlorids, auf. Hierdurch wird die Aufarbeitung der Verbindungen enorm vereinfacht, was die benötigten zwei zusätzlichen Reaktionsschritte (Umsetzung mit  $\text{BOC}_2\text{O}$  und spätere Abspaltung der BOC-Schutzgruppe durch Säure) rechtfertigt.

**Abbildung 3** zeigt eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß Maßnahme (d). Die freie Aminosäure L-3CN-Phe wird zusammen mit einem Äquivalent einer Ammoniumhydroxidverbindung, z.B. Benzyltrimethylammoniumhydroxid, in Methanol gelöst und das Lösungsmittel anschließend im Vakuum abgezogen. Zur Entfernung von entstandenem Wasser wird mit Toluol nachrotiert, da Wasser mit Toluol ein Azeotrop bildet. Das resultierende farblose Öl ist anschließend in Dichlormethan löslich. In diesem oder einem anderen geeigneten Lösungsmittel verläuft die Reaktion mit TIPPS-Cl (langsame Zugabe unter Kühlung) unter Zusatz eines tertiären Amins, z.B. Diisopropylethylamin, quantitativ ohne nennenswerte Nebenreaktionen innerhalb weniger Stunden. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt in Ethylacetat gelöst, sauer und neutral gewaschen, die organische Phase getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Das Produkt wird aus Ether im Vakuum aufgeschäumt und getrocknet.

**Abbildung 4** zeigt eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß Maßnahme (e). Die freie Aminosäure L-3-CN-Phe wird zusammen mit einem Überschuss an Trimethylsilan in Dichlormethan suspendiert und für 1,5 Stunden unter Rühren refluxiert. Dadurch bildet sich intermediär der äußerst wasserempfindliche Trimethylsilylester als Schutz vor Dimerisierung. Durch die gleichzeitige Silylierung der Aminogruppe wird die Nucleophilie erhöht, was die folgende Reaktion mit TIPPS-Cl beschleunigt. Anschließend wird die Reaktionslösung im Eisbad gekühlt und DIPEA als Base zugegeben. TIPPS-Cl kann ohne besondere Vorkehrungen (z.B. ist kein Lösen oder Zutropfen nötig) auf ein Mal zugegeben werden. Die Reaktionslösung wird 30 Minuten bei 0 °C und dann 1 bis 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel kann anschließend im Vakuum abgezogen werden. Der Rückstand wird 5 Minuten in Wasser gerührt, um den Silylester abzuspalten und dann zwischen 10 ml Ethylacetat + 30 ml Ether und 5 %  $\text{KHSO}_4$  verteilt. Die organische Phase wird zwei Mal sauer und zwei Mal mit destilliertem Wasser gewaschen, getrocknet und das

Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Es wurde ein Mal mit wenig Toluol nachrotiert und das Öl im Vakuum getrocknet. Das Öl wurde mit 20 ml Petrolether versetzt und kurz im Ultraschallbad behandelt, wobei das Produkt auskristallisiert. Das Produkt wurde abfiltriert, mit Petrolether gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet. Die Ausbeute betrug 84 %  
5 weißes, kristallines Pulver. Die Reinheit gemessen mit HPLC bei 220 nm betrug 80 %.

### Ansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten, umfassend eine oder mehrere der folgenden Maßnahmen:
  - (a) Verwendung von 3-Cyanobenzylbromid als Ausgangsmaterial, das mit einem N-geschützten Aminomalonsäurediester zu einem N-geschützten Cyanophenylalanin umgesetzt wird;
  - (b) Aufarbeitung des Produkts aus der Reaktion von 3-Cyanophenylalanin und einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere 2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl (TIPPS)-halogenid, in einem wässrigen Medium;
  - (c) Umsetzung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanins mit einem Piperazinderivat unter Bildung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanin-piperazids und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere einem TIPPS-halogenid;
  - (d) Umsetzung von 3-Cyanophenylalanin mit einer quaternären Ammoniumhydroxidverbindung zu einem 3-Cyanophenylalanin-ammoniumsalz und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere einem TIPPS-Halogenid.
  - (e) Umsetzung von 3-Cyanophenylalanin mit einer Trialkylsilanverbindung zu einem 3-Cyanophenylalanintrialkylsilylester und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,

dass man in Maßnahme (a) einen N-Acyl-geschützten Aminomalon-säurediester, insbesondere einen Acetamidomalon-säurediester verwendet.

- 5     3.     Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass man in Maßnahme (b), (c), (d) oder (e) TIPPS-Cl verwendet.
- 10     4.     Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass man in Maßnahme (c) als Piperazinderivat N-Ethoxycarbonyl-  
         piperazin verwendet.
- 15     5.     Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,  
         **dadurch gekennzeichnet,**  
         dass man  $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-amidino-(D,L)-  
         phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid,  $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-  
         phenylsulfonyl)-3-guanidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-  
         piperazid oder die L-Enantiomeren davon herstellt.
- 20

### Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von 3-  
Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten, insbesondere von Triiso-  
propylphenyl-sulfonyl-substituierten 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenyl-  
alanin-Derivaten.

10

15

20

sh/ANM/28579PDE-1 20.08.2002

Abbildung 1

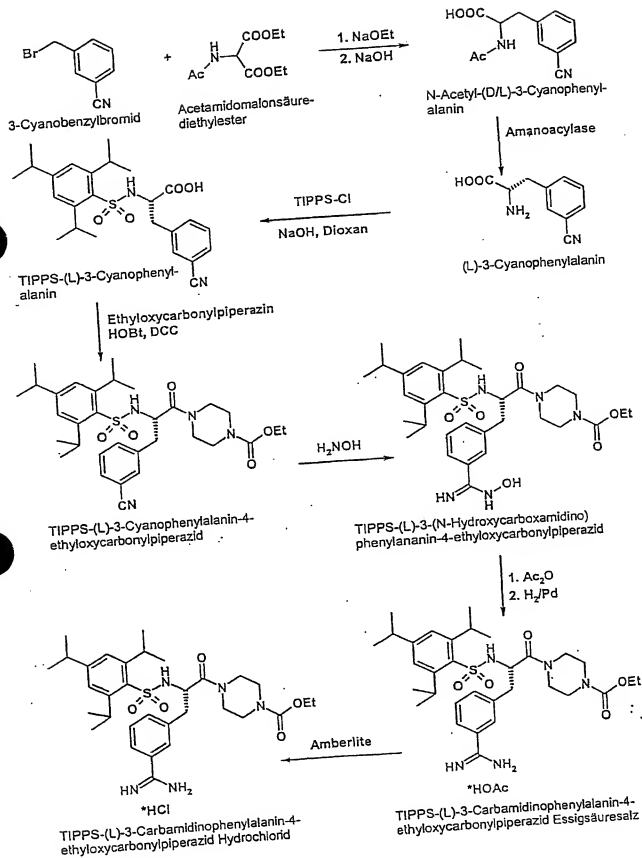


Abbildung 2

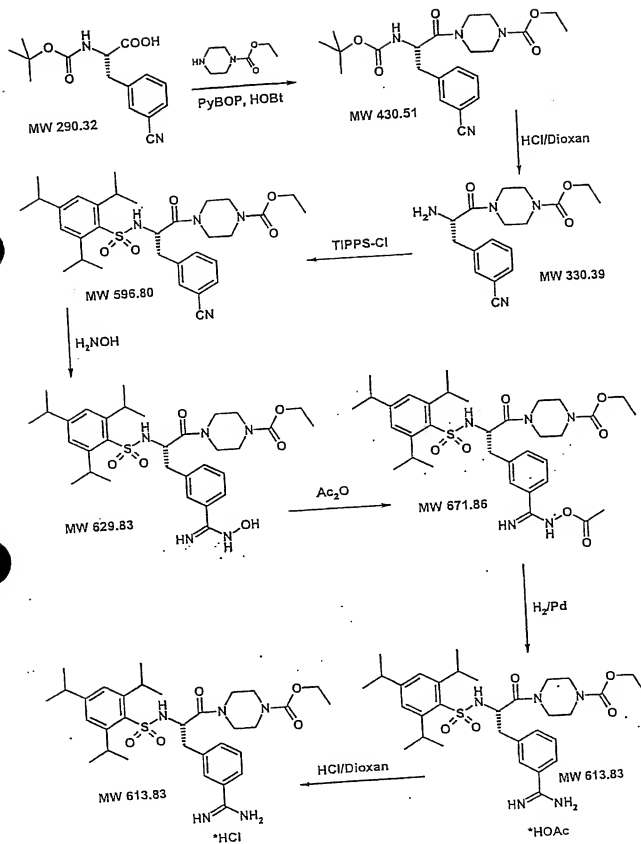




Abbildung 3

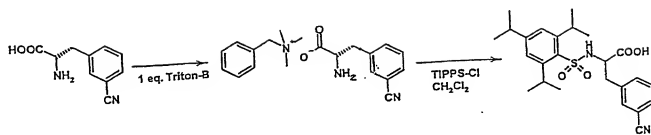


Abbildung 4

